

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2004-000163

(43)Date of publication of application : 08.01.2004

(51)Int.Cl.

C12M 3/00

(21)Application number : 2003-069034

(71)Applicant : SHIMADZU CORP
BIO ORIENTED TECHNOL RES
ADVANCEMENT INST

(22)Date of filing : 14.03.2003

(72)Inventor : FUJIYAMA YOICHI
NAKANISHI HIROAKI

(30)Priority

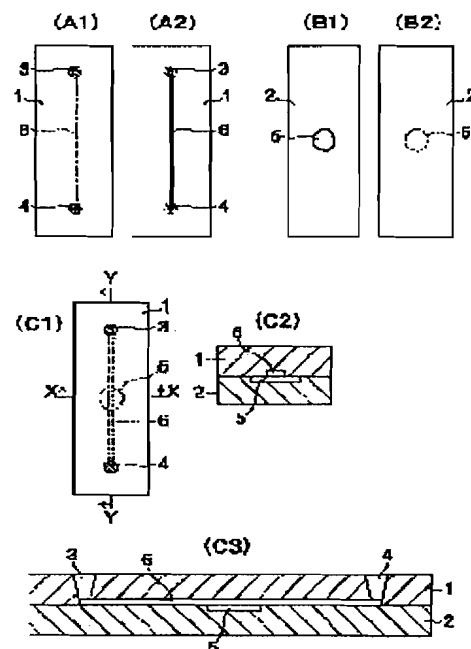
Priority number : 2002094312 Priority date : 29.03.2002 Priority country : JP

(54) CELL USED FOR TREATING CELL

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To trap a cell at a specific place in a microchip by a simple means.

SOLUTION: A minute flow channel groove 6 used as a flow channel for a liquid sample having a width and a depth of several hundred μm at most and holes 3 and 4 for introducing and discharging the sample are formed on one surface of a glass substrate 1. A cell culture chamber 5 comprised of a circular concave part having a depth almost equal to that of the flow channel and a diameter of about 1 mm is formed on a glass substrate 2. The surface of the substrate 1 where the flow channel groove 6 is formed and the surface of the substrate 2 where the cell culture chamber 5 is formed are faced to each other and adhered to be joined in a liquidtight manner. Thus, when a solution containing a cell is poured from the introduction hole 3, the solution flows along the flow channel groove 6 and the cell is let to flow toward the discharge hole 4 to be trapped in the cell culture chamber 5.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

05.09.2005

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-163

(P2004-163A)

(43) 公開日 平成16年1月8日(2004.1.8)

(51) Int.Cl.⁷
C12M 3/00F1
C12M 3/00テーマコード(参考)
4B029

審査請求 未請求 請求項の数 13 OL (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2003-69034 (P2003-69034)
 (22) 出願日 平成15年3月14日(2003.3.14)
 (31) 優先権主張番号 特願2002-94312 (P2002-94312)
 (32) 優先日 平成14年3月29日(2002.3.29)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成15年3月3日
 社団法人日本化学会発行の「日本化学会第83春季
 年会(2003) 講演予稿集1」に発表

(71) 出願人 000001993
 株式会社島津製作所
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地
 (71) 出願人 000195568
 生物系特定産業技術研究推進機構
 埼玉県さいたま市北区日進町1丁目40番
 地2
 (74) 代理人 100085464
 弁理士 野口 繁雄
 (72) 発明者 藤山 陽一
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地
 株式会社島津製作所内
 (72) 発明者 中西 博昭
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地
 株式会社島津製作所内

最終頁に続く

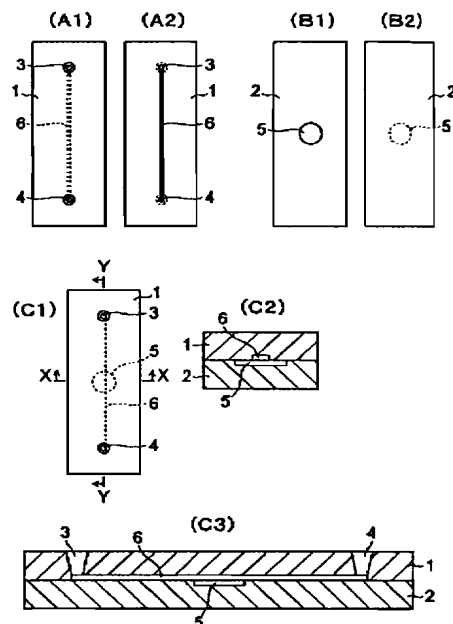
(54) 【発明の名称】細胞の処理に用いるセル

(57) 【要約】

【課題】簡単な手段によって細胞をマイクロチップ中で
 特定の場所にトラップできるようにする。

【解決手段】ガラス基板1の片面には、数100 μ m以
 下の幅、深さを持つ液体試料用流路として用いる微小な
 流路溝6と試料導入及び排出のための穴3、4が形成さ
 れている。ガラス基板2には流路と同程度の深さで直径
 が1mm程度の円形凹部からなる細胞培養室5が形成さ
 れている。基板1の流路溝6が形成された面と基板2の
 細胞培養室5が形成された面を向かい合わせて密着させ
 、液密に接合する。導入穴3から細胞を含んだ溶液を流
 し込むと、溶液は流路溝6に沿って流れ、細胞は排出穴
 4の方向に流され、細胞培養室5でトラップされる。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項1】

基体内部に形成され液体を流すことのできる流路と、
前記流路の両端部につながる液出入口と、
前記基体内部で前記流路の途中に設けられ、前記流路に対し段差をもち、液体の流通方向に直交する断面積が前記流路の断面積よりも大きくなった細胞培養室とを前記基体に一体的に備えていることを特徴とするセル。

【請求項2】

前記細胞培養室の段差の深さが前記流路の深さより大きい請求項1に記載のセル。

【請求項3】

前記基体は2枚の基板からなり、上側基板にはその表面に前記流路が底をもつ溝として形成され、下側基板にはその表面に前記細胞培養室が凹部として形成され、両基板が前記流路と前記細胞培養室が内側となるように接合されており、前記上側の基板に前記液出入口が設けられている請求項1又は2に記載のセル。

10

【請求項4】

前記基体は2枚の基板からなり、上側基板には前記液出入口が設けられ、下側基板には同一表面に、前記流路が底をもつ溝として形成され、かつ前記細胞培養室が前記流路よりも深い底をもつ凹部として形成され、両基板が前記流路と前記細胞培養室が内側となるように接合されている請求項1又は2に記載のセル。

【請求項5】

前記基体は2枚の基板からなり、上側基板には同一表面に、前記流路が底をもつ溝として形成され、かつ前記細胞培養室が前記流路よりも深い底をもつ凹部として形成され、下側基板は平坦な表面をもつ基板であり、前記流路、細胞培養室、及び前記下側基板の平坦面が内側となるように両基板が接合されており、前記上側の基板に前記液出入口が設けられている請求項1又は2に記載のセル。

20

【請求項6】

前記細胞培養室の内面には細胞の付着力を高める化学修飾が施されている請求項3、4又は5に記載のセル。

【請求項7】

前記基体は3枚の基板からなり、最上層基板にはその表面に前記流路が底をもつ溝として形成され、中間基板には細胞培養室が貫通穴として形成され、最下層基板は平坦な表面をもつ基板であり、これらの3枚の基板が前記中間基板を間に挟み、前記最上層基板の流路形成面と前記最下層基板の平坦面が内側となるように接合されており、前記最上層基板に前記液出入口が設けられている請求項1又は2に記載のセル。

30

【請求項8】

前記基体は3枚の基板からなり、最上層基板には前記液出入口が設けられ、中間基板にはその表面に前記流路が底をもつ溝として形成され、細胞培養室が貫通穴として形成され、最下層基板は平坦な表面をもつ基板であり、これらの3枚の基板が前記中間基板を間に挟み、前記中間基板の流路形成面が最上層基板に対向し、前記最下層基板の平坦面が内側となるように接合されている請求項1又は2に記載のセル。

40

【請求項9】

前記基体は3枚の基板からなり、最上層基板は平坦な表面をもつ基板であり、中間基板にはその表面に前記流路が底をもつ溝として形成され、細胞培養室が貫通穴として形成され、最下層基板も平坦な表面をもつ基板であり、これらの3枚の基板が前記中間基板を間に挟み、前記中間基板の流路形成面が前記最下層基板の平坦面に対向し、前記最上層基板の平坦面が内側となつて細胞培養室の貫通穴を塞ぐように接合されており、前記中間基板に前記液出入口が設けられている請求項1又は2に記載のセル。

【請求項10】

前記基体は3枚の基板からなり、最上層基板は平坦な表面をもつ基板であり、中間基板には前記細胞培養室が貫通穴として形成され、最下層基板の表面には前記流路が底をもつ溝

50

として形成され、これらの3枚の基板が前記中間基板を間に挟み、前記最下層基板の流路形成面が内側となり、前記最上層基板の平坦面が内側となって細胞培養室の貫通穴を塞ぐように接合されており、前記中間基板に前記液出入口が設けられている請求項1又は2に記載のセル。

【請求項11】

前記流路が存在する面とは反対側の面において前記中間基板に接合される基板の面のうち前記細胞培養室の内面となる面に細胞付着力を高める化学修飾が施されている請求項7から10のいずれかに記載のセル。

【請求項12】

前記流路が存在する面とは反対側の面において前記中間基板に接合されて前記細胞培養室を構成する基板が前記中間基板よりも細胞付着力の高い材質からなる請求項7から10のいずれかに記載のセル。

【請求項13】

前記流路が存在する面とは反対側の面において前記中間基板に接合されて前記細胞培養室を構成する基板の厚さは、光学顕微鏡観察に適した厚さに設定されている請求項7から12のいずれかに記載のセル。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、細胞を取り扱う際に有効な手段であり、特にマイクロチップを用いたバイオテクノロジーの研究に関わる発明である。

【0002】

【従来の技術】

創薬や食品、作物開発や遺伝子工学等の分野においては、幅広く、細胞を扱う研究が行われている。従来、細胞はシャーレなどに入れられた培養地等により培養され、様々な実験に用いられている。細胞の機能解明を行う場合には、多くの薬品や導入物質による反応を調べる必要がある。したがって、特定の反応を効率よく、一度に多種類、しかも少量の試料で結果が得られる方法が望まれている。

【0003】

近年、分析化学の分野では μ TAS (Micro Total Analysis Systems) の研究が盛んになりつつあり、マイクロチップを用いて分析の高速化、省サンプル化、省溶媒化を図ることが期待されている。マイクロチップ上の微小空間中の反応では、従来の化学操作を用いた反応よりも反応効率を向上できる可能性も示されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

ところが、通常のマイクロ流路中では、溶液の流れがあるために細胞は流路壁面に接着せず、培養することが困難であるという問題があった。流路内面の化学的性質を改質する方法によって細胞の接着を促進する方法もあるが、この場合には流路内壁がすべて改質されるため、目的とする場所のみで細胞を培養することは困難であったり、あるいは複雑な機能を持たせたマイクロチップを製作する場合に適用するのが困難であったりするといった問題がある。

本発明は、簡単な手段によって細胞をマイクロチップ中で特定の場所にトラップし、この場所で細胞培養などを行うことができるようにしたセルを提供することを目的とするものである。

【0005】

【課題を解決するための手段】

マイクロチップ中の流路では、わずかな液面の差などによって常に溶液が流れている状態である。このため、流路中に導入された細胞は、流路内の様々な位置に分布し、また、うまく壁面に接着できないために細胞が活動しない。

本発明が対象にしているマイクロチップは、基体に流路その他の溶液の反応や処理に必要

10

20

30

40

50

な部分が形成されているものを指しており、大きさに関しては特に制約はない。

【0006】

本発明は、流路中に段差を設けた細胞培養室を設け、その断面積を流路断面積に対して十分大きくする構造のセルとすることにより、細胞付近の実質的な溶液の流れを抑制して細胞培養室に細胞を捕捉しやすくして、マイクロチップ中で細胞培養などの処理をできるようにしたものである。

【0007】

すなわち、本発明のセルは、基体内部に形成され液体を流すことのできる流路と、その流路の両端部につながる液出入口と、基体内部で前記流路の途中に設けられ、流路に対し段差をもち、液体の流通方向に直交する断面積が流路の断面積よりも大きくなった細胞培養室とを基体に一体的に備えたものである。

10

【0008】

【作用】

細胞培養室は流路に対して大きな容量となるため、細胞培養室では溶液の流れが遅くなる。このため、細胞培養室に細胞をトラップすることが可能となる。

また、細胞培養室は流路に対し下方向又は上方向に窪んだ段差をもっているため、細胞培養室の底に沈んだ細胞や浮かんだ細胞の付近は静かな環境となり細胞が壁面に接着しやすい。

【0009】

【発明の実施の形態】

20

細胞培養室の容量を流路に対して大きくするためには、細胞培養室の段差の深さと下面又は上面の底面積を大きくすればよい。例えば、細胞培養室の段差の深さは流路の深さより大きくすることが好ましい。

【0010】

基体の材質としては、合成石英基板やバイレックス (Corning Glass Works 社 (米国) の登録商標) ガラス基板などのガラス基板を初め、シリコン基板、耐薬品性のあるプラスチックなどを用いることができる。

そのような基板に流路、細胞培養室及び貫通穴を形成するには、半導体製造技術を基盤とするマイクロマシニング技術を用いることができる。

【0011】

30

細胞培養室に細胞を捕捉しやすするために、細胞培養室の内面には細胞の付着力を高める化学修飾が施されていることが好ましい。そのような化学修飾としては、従来から培養容器に施されていた方法を利用することができ、例えば、コラーゲンコート、ポリーL-リジンコート、ゼラチンコートなどがある。

【0012】

本発明のセルを製造する方法の一例は、接合面に流路等を形成した基板を張り合わせることである。

接合する2枚の基板の両方に加工をすることは可能であるので、例えばカバーとなる基板に流路を形成し、ベースとなる基板に細胞培養室を形成した上でこれらの基板を接合することによって本発明のセルを作製することができる。そのようにして作製したセルは、基体が2枚の基板からなり、上側の基板にはその表面に流路が底をもつ溝として形成され、下側の基板にはその表面に細胞培養室が凹部として形成され、両基板が流路と細胞培養室が内側となるように接合されており、上側の基板に液出入口が設けられているものである。この形態では細胞培養室の底面は流路よりも低い位置にくる。

40

【0013】

この形態のセルでは、基板に流路溝と細胞培養室のための凹部を形成する加工工程において、一方の基板に流路溝、他方の基板に細胞培養室のための凹部を形成することになるので、それぞれの基板に深さの一定な溝や凹部を形成するだけですみ、加工が容易である。

【0014】

また、接合する2枚の基板の一方に流路と細胞培養室をともに形成することもできる。流

50

路と細胞培養室をともに下側の基板に形成して作製したセルは、上側の基板には前記液出入口が設けられ、下側の基板には同一表面に、流路が底をもつ溝として形成され、かつ細胞培養室が流路よりも深い底をもつ凹部として形成され、両基板が流路と細胞培養室が内側となるように接合されているものである。この形態でも細胞培養室の底面は流路よりも低い位置にくる。

【0015】

流路と細胞培養室をともに上側の基板に形成して作製したセルは、上側基板には同一表面に、流路が底をもつ溝として形成され、かつ細胞培養室が流路よりも深い底をもつ凹部として形成され、下側基板は平坦な表面をもつ基板であり、流路、細胞培養室、及び下側基板の平坦面が内側となるように両基板が接合されおり、上側の基板に液出入口が設けられているものである。この形態では細胞培養室の底面は流路よりも高い位置にくる。

10

【0016】

これらの形態において、細胞培養室の底面又は上面は流路とは異なる高さに形成されるので、細胞培養室の底面又は上面にのみ細胞を捕捉しやすするために化学修飾を施し、流路にはその化学修飾を施さないようにすることが好ましい。

【0017】

本発明のセルは3枚の基板を張り合わせて作製することもできる。そのような本発明のセルの一形態は、最上層基板にはその表面に流路が底をもつ溝として形成され、中間基板には細胞培養室が貫通穴として形成され、最下層基板が平坦な表面をもつ基板であり、これらの3枚の基板が中間基板を間に挟み、最上層基板の流路形成面と最下層基板の平坦面が内側となるように接合されており、最上層基板に液出入口が設けられているものである。この形態では細胞培養室は流路よりも低い位置にくる。

20

【0018】

3枚の基板を張り合わせて作製した他の形態のセルは、最上層基板には液出入口が設けられ、中間基板にはその表面に流路が底をもつ溝として形成され、細胞培養室が貫通穴として形成され、最下層基板が平坦な表面をもつ基板であり、これらの3枚の基板が中間基板を間に挟み、中間基板の流路形成面が最上層基板に対向し、最下層基板の平坦面が内側となるように接合されているものである。この形態でも細胞培養室は流路よりも低い位置にくる。

【0019】

3枚の基板を張り合わせて作製したさらに他の形態のセルは、最上層基板が平坦な表面をもつ基板であり、中間基板にはその表面に流路が底をもつ溝として形成され、細胞培養室が貫通穴として形成され、最下層基板も平坦な表面をもつ基板であり、これらの3枚の基板が中間基板を間に挟み、中間基板の流路形成面が最下層基板の平坦面に対向し、最上層基板の平坦面が内側となつて細胞培養室の貫通穴を塞ぐように接合されており、中間基板に前記液出入口が設けられているものである。この形態では細胞培養室は流路よりも高い位置にくる。

30

【0020】

3枚の基板を張り合わせて作製したさらに他の形態のセルは、最上層基板が平坦な表面をもつ基板であり、中間基板には細胞培養室が貫通穴として形成され、最下層基板の表面には流路が底をもつ溝として形成され、これらの3枚の基板が中間基板を間に挟み、最下層基板の流路形成面が内側となり、最上層基板の平坦面が内側となつて細胞培養室の貫通穴を塞ぐように接合されており、中間基板に液出入口が設けられているものである。この形態でも細胞培養室は流路よりも高い位置にくる。

40

【0021】

3枚の基板を張り合わせて作製したこれらのセルにおいては、流路が存在する面とは反対側の面において中間基板に接合される基板の面のうち細胞培養室の内面となる面には上記に例示したような細胞付着力を高める化学修飾が施されているか、又は流路が存在する面とは反対側の面において中間基板に接合されて細胞培養室を構成する基板として中間基板よりも細胞付着力の高い材質からなるものを使用するのが好ましい。細胞付着力の高い材

50

質からなる基板としては、例えばポリスチレンのようなプラスチック材料、表面状態を制御したガラス板などを用いることもできる。

【0022】

また、3枚の基板を張り合わせて作製したこれらのセルにおいては、流路が存在する面とは反対側の面において前記中間基板に接合されて細胞培養室を構成する基板の厚さは、光学顕微鏡観察に適した厚さ、例えば、0.15mm程度に設定されているのが好ましい。

【0023】

基体が3枚の基板からなるこれらの形態のセルの場合には、細胞培養室の段差の深さは中間の基板の厚さにより規定されるため、その中間の基板の厚さを選択したり、細胞培養室部分の厚さを調整することにより細胞培養室の段差の深さを任意に設定することができる。

10

【0024】

以下に図面を参照して本発明をより具体的に説明する。

図1は本発明で実現するセルの第1の実施例であり、2枚の基板を接合したものである。

(A1)は上側基板1の外側となる面の平面図、(A2)は同基板1の内側となる面の平面図、(B1)は下側基板2の内側となる面の平面図、(B2)は同基板2の外側となる面の平面図、(C1)は完成したセルの平面図、(C2)は同セルのX-X線位置での断面図、(C3)は同セルのY-Y線位置での断面図である。

【0025】

本図において1, 2はガラス基板、例えば合成石英基板である。ガラス基板1の片面には、数100 μ m以下の幅、深さを持つ液体試料用流路として用いる微小な流路溝6と試料導入及び排出のための液出入口の穴3, 4が形成されている。

20

【0026】

一方、ガラス基板2には流路と同程度の深さで直径が1mm程度の円形凹部からなる細胞培養室5が形成されている。

基板1の流路溝6が形成された面と基板2の細胞培養室5が形成された面が向かい合わせて密着させられ液密に接合されて、内部に液体試料用の流路溝6及び細胞培養室5をもつチップ型セルが形成されている。

ガラス基板の接合は、後の製造方法で説明するように、例えばフッ酸溶液による接合などの手段を用いることができる。

30

【0027】

貫通穴3, 4の形状は実施例では上方になるほど広くなるようなテーパ形状に形成されているので、試料溶液の注入や排出の処理が容易になる。しかし、貫通穴3, 4の形状はこのようなテーパ形状に限らず、垂直な壁面をもつ穴であってもよい。以下の実施例においても同様である。

【0028】

このような構成のセルにおいて、基板1が上側、基板2が下側になるように配置し、導入穴3から細胞を含んだ溶液を流し込むと、溶液は流路溝6に沿って流れ、細胞は排出穴4の方向に流される。この際、細胞培養室5で著しく流速が減少し、かつ細胞培養室5は流路溝6より下方に配置されているために、細胞は細胞培養室5にトラップされる。細胞培養室5は、流路溝6の底面より下方に存在し、また、細胞培養室5では液体の流速が減少しているために、細胞培養室5の底に沈んだ細胞には液体の流れる力が加わりにくく、底面への接着が促進される。

40

【0029】

この実施例のセルで、例えば流路6は幅が0.1mm、深さが0.05mm、細胞培養室5は直径1mmの円形、深さが0.05mmであったとすると、細胞培養室5は流路6に対してかなり大きな容量となるため、この部分では溶液の流れが非常に遅くなる。このため、この場所に細胞をトラップすることが可能となる。また、細胞培養室5の底に沈んだ細胞の付近は非常に静かな環境となり細胞が壁面に接着しやすい。この程度のサイズの細胞培養室5であれば、従来の系に比べて十分小さく、マイクロチップの特徴である微小空

50

間を保つことができる。この実施例のように、流路6に対しては十分大きな容量であり、かつ微小空間の特徴を崩さない程度の細胞培養室5を形成することによって、微小空間に細胞をトラップし、かつ増殖させることが可能なマイクロチップを実現できる。

【0030】

この条件でも細胞培養室5における細胞の接着が不十分な場合には、化学薬品を用いて流路6内面及び細胞培養室5内面の改質を行なうことにより、接着を促進することが可能である。

【0031】

さらに、両基板1, 2の接合前にこの細胞培養室5のみ内面の化学修飾を行い、細胞が接着しやすい条件を整えることも可能である。そのような化学修飾の例は、コラーゲンコート、ポリ-L-リジンコート、ゼラチンコートなどである。細胞培養室5の底面にそのような化学修飾を施せば、細胞培養室5に細胞が接着しやすくなって培養に好都合になる。

【0032】

この実施例の製造方法を以下に簡単に説明する。他の実施例のセルも同様の方法により製造することができる。

ガラス基板を用いる場合を例にして、本発明セルの製造方法の一例を簡単に説明する。

【0033】

ガラス基板1, 2に流路6や細胞培養室5のための溝又は凹部を形成するには、洗浄したガラス基板1, 2に薄膜形成装置（例えばスパッタ成膜装置）にてエッチング保護膜、例えばシリコン（Si）薄膜を形成し、その上にそのエッチング保護膜をパターニングするためのフォトレジスト層を形成する。

【0034】

次に、フォトリソマスクを用いてフォトレジストを露光し、続いて現像してフォトレジストをパターニングする。フォトレジストの露光は、一般に半導体装置の製造に用いられているアライナを用いて行なうことができる。

【0035】

次に、フォトレジストのパターンをマスクとしてエッチング保護膜をパターニングする。エッチング保護膜がシリコンであれば、SF₆ガス中での高周波プラズマを用いたドライエッチングなどを用いることができる。

【0036】

次に、パターニングされたエッチング保護膜及びフォトレジストをマスクとして、ガラス基板1, 2をエッチングして溝や凹部を形成する。ガラス基板1, 2のエッチングには、例えば46%フッ酸水溶液をエッチング液として使用することができる。その後、フォトレジストを除去し、エッチング保護膜をエッチング除去する。

【0037】

ガラス基板1に貫通穴3, 4を開けるための加工は、例えばサンドブラスト等により行うことができる。

このようにして所定の加工が施されて準備されたガラス基板1, 2を重ね合わせて接合する。接合方法の一例として、例えば1%のフッ酸水溶液をガラス基板の界面に介在させ、必要に応じて1MPa程度の荷重を印加しつつ、室温で24時間程度放置する方法を挙げることができる。

【0038】

図2は2枚の基板からなる第2の実施例を示す。（A1）は上側基板1aの外側となる面の平面図、（A2）は同基板1aの内側となる面の平面図、（B1）は下側基板2aの内側となる面の平面図、（B2）は同基板2aの外側となる面の平面図、（C1）は完成したセルの平面図、（C2）は同セルのX-X線位置での断面図、（C3）は同セルのY-Y線位置での断面図である。

【0039】

この実施例も図1の実施例と同様に2枚の基板1a, 2aを接合したものである。この実施例では、ガラス基板1aには試料導入及び排出のための穴3, 4のみが形成されている

10

20

30

40

50

。一方、ガラス基板 2 a には数 100 μ m 以下の幅、深さを持つ流路溝 6 と、流路溝 6 と同程度又はそれよりもさらに深く、直径が 1 mm 程度の円形凹部からなる細胞培養室 5 a が同一面に形成されている。

【0040】

そして、基板 1 a の内側となる面と基板 2 a の流路溝 6 及び細胞培養室 5 a が形成された面を向かい合わせて密着させ、第 1 の実施例と同様に接合させられて、内部に液体試料用の流路溝 6 及び細胞培養室 5 a をもつチップ型セルが形成されている。

【0041】

図 3 は 2 枚の基板からなる第 3 の実施例を示す。

2 枚の基板 1 b, 2 b を接合したものである。この実施例では、ガラス基板 1 b には試料導入及び排出のための穴 3, 4 が貫通穴として形成され、さらに数 100 μ m 以下の幅、深さを持つ流路溝 6 と、流路溝 6 と同程度又はそれよりも深く、直径が 1 mm 程度の円形凹部からなる細胞培養室 5 b が同一面に形成されている。一方、ガラス基板 2 b は平坦な基板である。基板 1 a の流路溝 6 及び細胞培養室 5 a が形成された面と基板 2 b の平坦面を向かい合わせて密着させ、第 1 の実施例と同様に接合させられて、内部に液体試料用の流路溝 6 及び細胞培養室 5 b をもつチップ型セルが形成されている。

この実施例では、細胞培養室 5 b は流路溝 6 よりも上側に形成されている。

【0042】

細胞の種類によっては比較的深い細胞培養室を必要とする場合がある。このような場合には、図 4 の第 4 の実施例に示されるように、基板を 3 枚用いて細胞培養室の深さを任意に設定できるようにすることができる。図 4 において、(A 1) は最上層基板 1 の外側となる面の平面図、(A 2) は同基板 1 の内側となる面の平面図、(B) は間に挟み込まれる基板 1 0 の平面図、(C) は最下層基板 1 2 の平面図、(D 1) は完成したセルの平面図、(D 2) は同セルの X-X 線位置での断面図、(D 3) は同セルの Y-Y 線位置での断面図である。

【0043】

最上層になる 1 枚目のガラス基板 1 には図 1 の実施例と同様に流路溝 6 とその両端の貫通穴 3, 4 が形成されている。間に挟み込まれる 2 枚目のガラス基板 1 0 には細胞培養室 7 となる貫通穴が形成されている。最下層となる 3 枚目のガラス基板 1 2 は内側となる接合面が平坦なガラス基板である。

【0044】

基板 1 の流路溝 6 が内側になるように 3 枚の基板 1, 1 0, 1 2 を密着させて接合され、2 枚目の基板 1 0 の厚みで深さが規定される細胞培養室 7 をもつセルが形成されている。

【0045】

また、図 4 の実施例のセルでは、1, 2 枚目の基板 1, 1 0 を用いてマイクロバルブ等の部品を作り込んだ複雑な構造を形成した後に、化学修飾を必要な場所にのみ行なった 3 枚目基板 1 2 を接合することが可能となり、複雑な構造を持ち、かつ必要な場所のみが化学修飾されているセルを容易に得ることができる。

【0046】

図 5 は 3 枚の基板からなる第 5 の実施例を示したものである。

(A 1) は最上層基板 1 a の外側となる面の平面図、(A 2) は同基板 1 の内側となる面の平面図、(B) は間に挟み込まれる基板 1 0 a の平面図、(C) は最下層基板 1 2 の平面図、(D 1) は完成したセルの平面図、(D 2) は同セルの X-X 線位置での断面図、(D 3) は同セルの Y-Y 線位置での断面図である。

【0047】

最上層になる 1 枚目の基板 1 a には液出入口となる貫通穴 3, 4 が形成されている。挟み込まれる 2 枚目の基板 1 0 a には流路溝 6 とその両端の間に細胞培養室 7 となる貫通穴が形成されている。最下層となる 3 枚目の基板 1 2 は内側となる接合面が平坦な基板である。基板 1 0 a の流路溝 6 が基板 1 a 側を向くように 3 枚の基板 1 a, 1 0 a, 1 2 を密着させて接合され、細胞培養室 7 をもつセルが形成されている。

【0048】

この実施例においては、流路溝6と細胞培養室7は2枚目の基板10aに形成されている。2枚目の基板10aとして、例えばリソグラフィとエッチングにより微細加工が容易なシリコン基板を用いる。シリコン基板の加工は半導体製造技術で確立されており、現在ではサブミクロン(1 μ m以下)の領域の微細加工も容易に行なうことができる。そして、1枚目の基板1aには流路形成のような加工は不要になるので、流路や細胞培養室の設計と関係なく、バルブ等を設計することができる。1枚目の基板1aとしては、例えばPDMS(ポリジメチルシロキサン)を用いる。また、3枚目の基板12は単に平坦な基板であればよいので、材質の面でも厚さの面でも選択の幅が広く、例えばパイレックス(登録商標)ガラスで、厚さが0.15mm程度のものを使用する。

10

【0049】

このような材質の組み合わせのセルは、顕微鏡観察に適したものとなる。また、パイレックス(登録商標)ガラスはシリコンよりも細胞が接着しやすい性質をもっており、流路がシリコン、細胞培養室の底面がパイレックス(登録商標)ガラスとなって細胞培養に適したものとなる。

【0050】

さらに1枚目の基板1aはあとから接合することができるので、まず2枚目の基板10aと3枚目の基板12とを接合し、細胞培養室の底面に細胞がより接着しやすくなるようにコーゲン溶液などを滴下して化学修飾を施した後、2枚目の基板10aに1枚目の基板1aを接合することにより、化学修飾が容易になるという利点もある。

20

【0051】

図6は3枚の基板からなる第6の実施例を示したものである。この実施例では2枚目の基板10bとして全体の厚さが厚いものを使用し、細胞培養室が形成される部分のみ厚さを薄くすることにより、全体の機械的強度を高めたものである。

【0052】

図7は3枚の基板からなる第7の実施例を示したものである。

2枚目の基板10cには流路溝6とその両端の間に細胞培養室7となる貫通穴が形成され、液出入口となる貫通穴3, 4も形成されている。最上層になる1枚目の基板1cと最下層となる3枚目の基板12bは接合面が平坦な基板である。基板10cの流路溝6が基板12b側を向き、1枚目の基板1cで細胞培養室7の上面を形成するように3枚の基板1c, 10c, 12bを密着させて接合され、細胞培養室7をもつセルが形成されている。

30

【0053】

図8は3枚の基板からなる第8の実施例を示したものである。

2枚目の基板10dには細胞培養室7となる貫通穴と液出入口となる貫通穴3, 4が形成され、最下層となる3枚目の基板12cに流路溝6が形成されている。最上層になる1枚目の基板1cは接合面が平坦な基板である。基板12cの流路溝6が基板10d側を向き、1枚目の基板1cで細胞培養室7の上面を形成するように3枚の基板1c, 10d, 12cを密着させて接合され、細胞培養室7をもつセルが形成されている。

【0054】

図7、図8の実施例では細胞培養室7は流路6よりも高い位置に形成されている。また、基板1cとして細胞が接着しやすい材質を選んだり、基板1cの細胞培養室7内面を化学修飾することにより細胞培養により適したセルとすることができる。

40

【0055】

【発明の効果】

本発明のセルによれば、簡単な構造で特定の場所に細胞をトラップすることが可能になる。また、この場所においてのみ細胞を培養又は活動させる機能を持たせることができる。この構成によって、目的とする細胞の反応を容易に試験するためのチップが提供できる。本発明のセルは、ごく単純な構造であり、様々な作製工程に導入できるため、バルブ等を組み込んだ複雑なマイクロチップにも展開可能である。

本発明のセルを用いることにより、試料の少量化、測定的高速化、多試料の同時測定等多

50

くのメリットがある。

【図面の簡単な説明】

【図 1】第 1 の実施例のセルを示す図であり、(A 1) は上側基板の外側となる面の平面図、(A 2) は同基板の内側となる面の平面図、(B 1) は下側基板の内側となる面の平面図、(B 2) は同基板の外側となる面の平面図、(C 1) は完成したセルの平面図、(C 2) は同セルの X-X 線位置での断面図、(C 3) は同セルの Y-Y 線位置での断面図である。

【図 2】第 2 の実施例のセルを示す図であり、(A 1) は上側基板の外側となる面の平面図、(A 2) は同基板の内側となる面の平面図、(B 1) は下側基板の内側となる面の平面図、(B 2) は同基板の外側となる面の平面図、(C 1) は完成したセルの平面図、(C 2) は同セルの X-X 線位置での断面図、(C 3) は同セルの Y-Y 線位置での断面図である。

10

【図 3】第 3 の実施例のセルを示す断面図である。

【図 4】第 4 の実施例のセルを示す図であり、(A 1) は最上層基板の外側となる面の平面図、(A 2) は同基板の内側となる面の平面図、(B) は間に挟み込まれる基板の平面図、(C) は最下層基板の平面図、(D 1) は完成したセルの平面図、(D 2) は同セルの X-X 線位置での断面図、(D 3) は同セルの Y-Y 線位置での断面図である。

【図 5】第 5 の実施例のセルを示す図であり、(A 1) は最上層基板の外側となる面の平面図、(A 2) は同基板の内側となる面の平面図、(B) は間に挟み込まれる基板の平面図、(C) は最下層基板の平面図、(D 1) は完成したセルの平面図、(D 2) は同セルの X-X 線位置での断面図、(D 3) は同セルの Y-Y 線位置での断面図である。

20

【図 6】第 6 の実施例のセルを示す断面図である。

【図 7】第 7 の実施例のセルを示す断面図である。

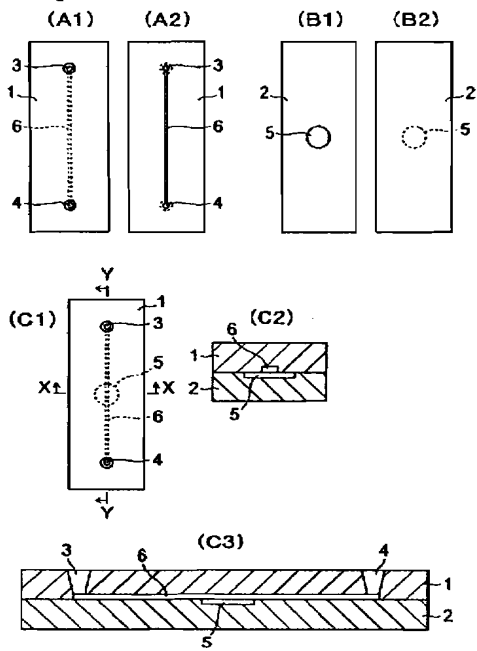
【図 8】第 8 の実施例のセルを示す断面図である。

【符号の説明】

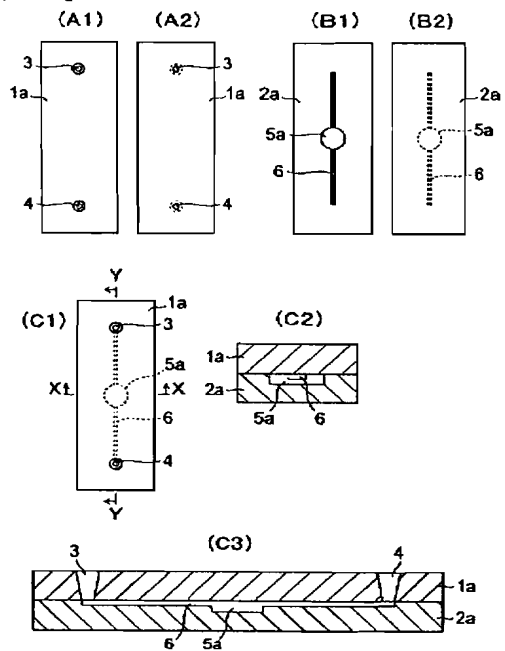
1, 1 a, 1 c, 2, 2 a, 10, 10 a, 10 b, 10 c, 10 d, 12, 12 b, 12 c 基板
3, 4 液出入口用貫通穴
5, 7 細胞培養室
6 流路溝

30

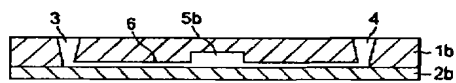
【図 1】



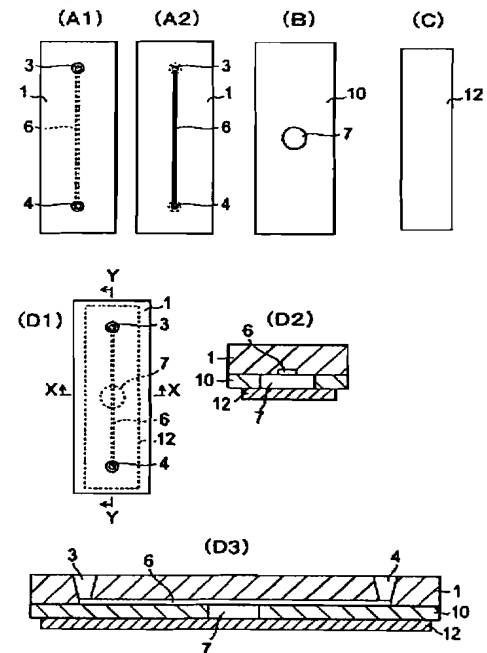
【図 2】



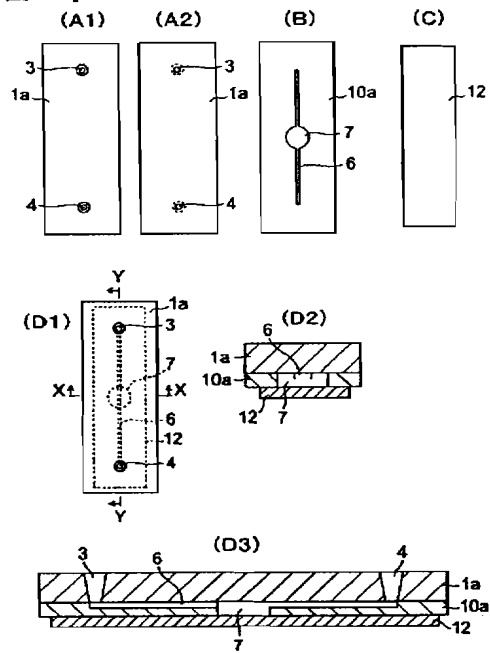
【図 3】



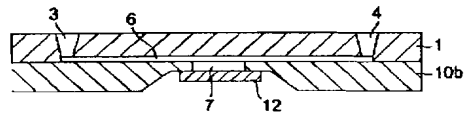
【図 4】



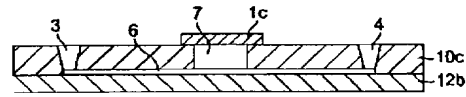
【 図 5 】



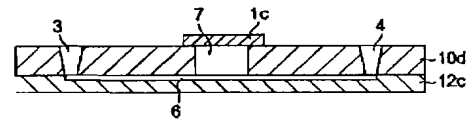
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



フロントページの続き

Fターム(参考) 4B029 AA02 AA08 AA21 BB11 CC02 CC08 GA08 GB01 GB02 GB06
GB09 GB10